甜菜夜蛾细胞分裂期染色体的观察

付建业，张青文*，蔡青年，徐 静，马晓牧，张礼生
（中国农业大学农学与生物技术学院，北京 100094）

摘要：以精巢组织为材料，采用空气干燥法制备染色体标本，对甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 有丝分裂和减数分裂染色体形态行为进行了研究。结果表明：甜菜夜蛾的染色体数目为 n = 31；染色体为弥散着丝粒染色体，2 条染色体上存在次缢痕；晚偶线期出现染色体互锁现象；从早粗线期到晚粗线期联会复合体逐渐伸长；终变期同源染色体形成环状、端部交叉、尾尾相对的结构。

关键词：甜菜夜蛾；染色体；有丝分裂；减数分裂
中图分类号：Q962 **文献标识码**：A **文章编号**：0454-6296(2005)01-0135-04

Observations on mitotic and meiotic chromosomes of the beet armyworm, *Spodoptera exigua* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae)

FU Jian-Ye, ZHANG Qing-Wen*, CAI Qing-Nian, XU Jing, MA Xiao-Mu, ZHANG Li-Sheng (College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract: Chromosome preparations were made from testis tissue of the beet armyworm (*Spodoptera exigua* Hübner) with airdry method. The morphological characteristics and behaviors of the chromosomes at various phases of mitosis and meiosis were studied. The chromosome number of the beet armyworm was determined as n = 31. All chromosomes have diffuse centromeres, and two chromosomes have secondary constriction. Chromosomes interlockings occur during the late zygotene. The synaptonemal complexes stretch gradually from the early pachytene to late pachytene. During the diakinesis the synaptonemal complexes showed rings, crossed or end-to-end configurations.

Key words: *Spodoptera exigua*; chromosome; mitosis; meiosis

昆虫染色体的研究，包括分析染色体核型、有丝分裂、减数分裂、特殊染色体、染色体的结构与数量变异，不仅对昆虫分类系统的建立、近缘种的区分、昆虫种类演替规律及种间种内进化，而且对遗传学、害虫的遗传防治及害虫抗药性机理具有重要意义。我国在昆虫染色体研究方面，对许多种类的染色体构造和行为进行了研究，取得了重要成果（张礼生等，2003）。

甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* Hübner，属鳞翅目夜蛾科，危害玉米、高粱、大豆、棉花、甜菜、芝麻、花生、烟草和蔬菜等 170 多种作物，是一种重要的世界性农业害虫。到目前为止，有关甜菜夜蛾的研究多集中在其生活习性、化学防治、生物防治和抗药性等方面（王晓容等，1995），而关于其染色体方面的研究却极少见报道，只有 Dong 和 Emmel（1975）研究得出甜菜夜蛾的染色体数目 n = 31。我们对甜菜夜蛾细胞分裂中染色体行为进行观察，旨在为进一步研究甜菜夜蛾的遗传防治和抗药性机理奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

实验所用甜菜夜蛾由中国农业大学农学与生物技术学院昆虫学系农虫组养虫室饲养。

1.2 方法

1.2.1 染色体标本制备时期的选择：从 2 龄幼虫到蛹期，每日解剖虫体并取其精巢制片，检查精巢生殖细胞的发育历程，确定观察细胞分裂的合适虫期。

1.2.2 染色体标本的制作方法：参照 Carll（1976）的方法，略有改动。在 Ringer 液中解剖虫体，取出精巢

基金项目：国家重大基础研究发展规划"973"项目（G2000016209）
作者简介：付建业，男，1974 年 8 月生，山西原平人，博士生，从事昆虫细胞遗传学研究，E-mail：joefu74@163.com
* 通讯作者 Author for correspondence，E-mail：zhangqingwen@263.net
收稿日期 Received：2003-12-25；接受日期 Accepted：2004-02-26

并剔去其周围的脂肪，然后将其置于 1% 柠檬酸钠中低渗 15 min。低渗后的精巢组织置入甲醇-乙酸液（3:1）中固定 30 min。然后将精巢组织置于预热 40℃的载玻片上，加一滴 50% 乙酸使组织崩解成细胞悬液，再加几滴甲醇-乙酸液使细胞分散在玻片上，自然风干。

1.2.3 染色体标本的染色：将干燥后的染色体标本置于 1/10 Giemsa 液（pH 6.8）中染色 10 ~ 15 min 后，蒸馏水冲洗、晾干。

1.2.4 染色体的观察拍照：将干燥后的染色体标本用 Olympus 相差光学显微镜观察分析，选择好的分裂相拍照。

2 结果与分析

2.1 甜菜夜蛾幼虫期精巢生殖细胞的细胞分裂状况

甜菜夜蛾的精巢呈浅黄色肾形，每个精巢由 4 个小管组成。甜菜夜蛾精巢的生殖细胞分裂在 2 ~ 3 龄幼虫期以有丝分裂居多，3 龄开始出现减数分裂早前期细胞，4 龄多为粗线期前后的分裂细胞，晚前期和中期Ⅰ分裂细胞多发生于 5 龄初。

2.2 甜菜夜蛾的染色体数目

对 10 个染色体玻片中 121 个分散良好、轮廓清晰的精母细胞减数分裂中期Ⅰ染色体数目进行观察统计，结果见表 1。由表中可知，具有染色体数目 n = 31 的精母细胞数占所调查精母细胞数的 93.4%。据此推断甜菜夜蛾的染色体数目为 n = 31，与 Dong 和 Emmel（1975）报道的甜菜夜蛾减数分裂染色体数目一致。单一精母细胞染色体数目之所以出现少于 n = 31 的情况可能是由于低渗处理使个别细胞涨破导致染色体丢失所致。

表 1 甜菜夜蛾精母细胞减数分裂中期Ⅰ染色体数目
Table 1 Chromosome number of spermatocyte of *Spodoptera exigua* in meiotic metaphase Ⅰ

染色体数目(n) Chromosome numbers	具有相同染色体数目的精母细胞 Spermatocytes with the same chromosome number	
	数目 Number	所占比例 Percent(%)
31	113	93.4
30	4	3.3
29	2	1.7
28	1	0.8
27	1	0.8

2.3 甜菜夜蛾精原细胞有丝分裂的染色体行为

有丝分裂是甜菜夜蛾精原细胞的增殖方式。对于有丝分裂，通常人为地分为前、中、后、末 4 个时期，实际上它是一个动态连续的过程（常平安等，2001a）。从图 1 可以了解甜菜夜蛾有丝分裂过程中染色体的形态行为。

前期，染色体呈细丝状缠绕在一起（图 1: a），随后染色体不断浓缩，缩短变粗。在早前中期，染色体已收缩成棒状（图 1: b）。

晚前中期，染色体进一步浓缩为短棒状（图 1: c）。此时，每条染色体的 2 条染色单体并排平行连接在一起，并出现有限的连接点，有时两条染色单体会出现扭结，但染色体上没有观察到初级缢痕，也没有观察到 2 条染色单体在某一位置的连接更靠近的现象（Walther and Cyril，1996）。因此，甜菜夜蛾染色体为弥散着丝粒染色体。另外，在甜菜夜蛾早中期染色体上还出现染色较浅的次缢痕，次缢痕在不同分裂相中，缢缩程度不完全一致，但缢痕位置比较固定。通常在 2 条染色体上出现次缢痕，但并非在所有分裂相中都出现。其原因可能是不同分裂相中此 2 条染色体不同的空间形态影响了次缢痕的观察。

中期，染色体浓缩到最大程度，呈颗粒状，是观察染色体数目的最佳时期。甜菜夜蛾精原细胞染色体数目为 2n = 62（图 1: d）。后期，染色体的 2 条染色单体分离，并移向细胞两极。随后是末期，染色体逐渐去凝集（图 1: e）。

2.4 甜菜夜蛾精母细胞减数分裂的染色体行为

减数分裂与有丝分裂的一个主要区别在于其复杂的分裂前期，在粗线期同源染色体形成联会复合体，在双线期同源染色体相互分离，表现出特殊的染色体形态行为（常平安等，2001 b）。

从图 2 可以看出，染色体随着减数分裂进程总体上表现出逐步缩短变粗的趋势。细线期染色体细长缠绕在一起，难以区分各条染色体（图 2: a）。早偶线期，所有染色体的一端聚集于细胞一极，呈花束状（图 2: b），故该时期也称为花束期（马昆和施立明，1988）。该时期，同源染色体先于两端开始配对，然后配对区域逐渐向染色体中部延伸。由于各条染色体在核中随机分散，同源染色体配对先于两端开始造成了不同联会复合体的互锁现象（图 2: e）。中偶线期，一些同源染色体已完全配对，而多数同源染色体的中部仍未完全配对（图 2: c）。

粗线期，所有染色体已完全配对，形成 31 条联会复合体（图 2: d）。经过对粗线期染色体形态的观察发现，从早粗线期到晚粗线期联会复合体逐渐伸长。

双线期，各同源染色体间的联会逐渐解体，两侧

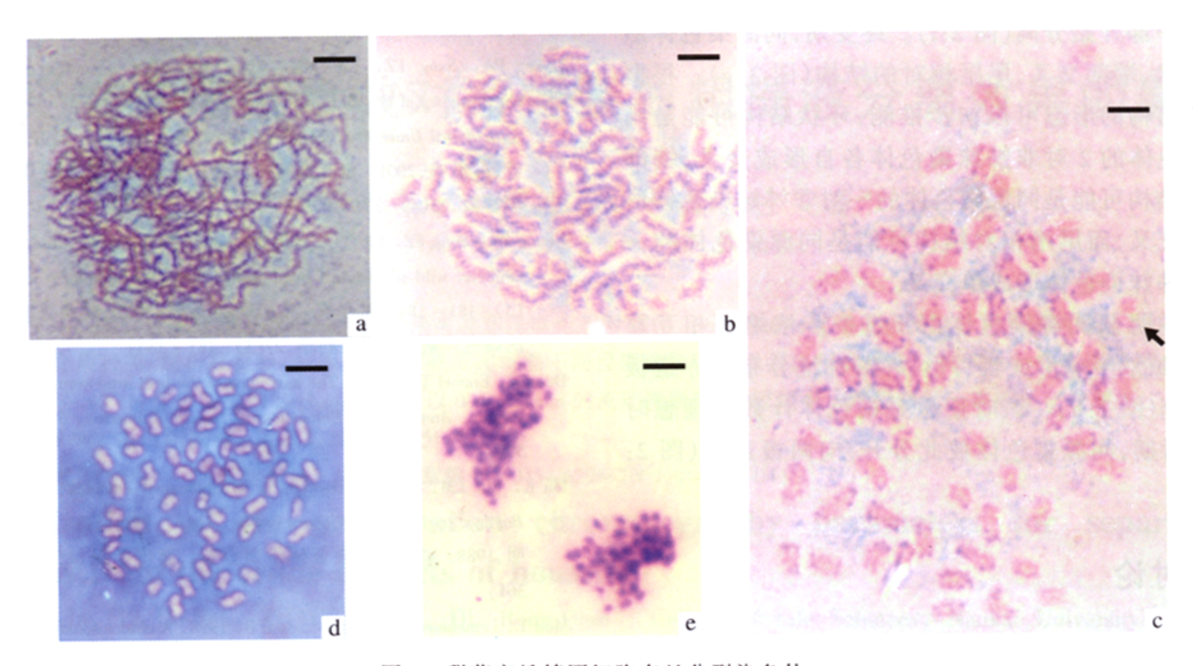


图 1　甜菜夜蛾精原细胞有丝分裂染色体

Fig. 1　Mitotic chromosomes of *Spodoptera exigua* spermatospore

a：前期 Prophase；b：早前中期 Early prometaphase；c：晚前中期 Late prometaphase；d：中期 Metaphase；e：后期 Anaphase．标尺 Scale bar = 1 μm；箭头示次缢痕 Secondary constriction at arrow．

图 2　甜菜夜蛾精母细胞减数分裂Ⅰ染色体

Fig. 2　Chromosomes of *Spodoptera exigua* spermatocytes in meiosis Ⅰ

a：细线期 Leptotene；b：早偶线期 Early zygotene；c：中偶线期 Mid zygotene；d：粗线期 Pachytene；e：晚偶线期 Late zygotene；f：双线期 Diplotene；g：终变期 Diakinesis；h：中期Ⅰ Metaphase Ⅰ；i：后期 Anaphase．标尺 Scale bar = 1 μm；箭头示染色体互锁 Chromosomes interlocking at arrow．

轴从中部开始分离(图 2:f)。终变期,同源染色体形成环状、端部交叉、尾尾相对的结构(图 2:g)。根据这些结构的形态可以初步推测,环状结构可能是同源染色体的 2 对非姊妹染色体各自形成交叉,端部交叉结构可能是同源染色体的一对非姊妹染色体形成双交叉,而尾尾相对结构可能是同源染色体的一对非姊妹染色体形成单交叉。

中期Ⅰ,同源染色体由于进一步浓缩而相互靠近,形成双半球形或哑铃形,并对称地分布于赤道板的两侧(图 2:h)。该时期也是染色体计数的理想时期。后期,同源染色体彼此分开,向两极运动(图 2:i)。

3 讨论

甜菜夜蛾的染色体数目为 n = 31。Moti 等(1998)研究表明 *Spodoptera latifascia* 和 *S. descoinsi* 染色体的数目为 n = 31。它们与甜菜夜蛾同属灰翅蛾属,同样已有染色体调查的夜蛾科昆虫的染色体数目绝大多数为 n = 31,因此,n = 31 很有可能是夜蛾科灰翅蛾属昆虫的染色体数目。

甜菜夜蛾减数分裂早粗线期到晚粗线期联会复合体逐渐伸长,这一现象也存在于家蚕、天蚕、蓖麻蚕和大蜡螟粗线期(王运湘等,1995),但与大多数哺乳动物的观察结果正好相反,其原因尚不清楚。

由于染色体数目较多(n = 31),细胞分裂中期染色体高度浓缩成颗粒状,染色体为弥散着丝粒染色体,使得甜菜夜蛾的染色体无法逐一区分。因而,探寻有效的核型分析方法将是甜菜夜蛾染色体深入研究的首要任务。

参 考 文 献 (References)

Carll P, 1976. High-resolution chromosome analysis in Lepidoptera. *Annals of the Entomological Society of America*, 69(4): 764 - 771.

Chang PA, Song FZ, Liu MX, Zhan SF, 2001. Studies on mitotic chromosomes of eri silkworm (*Philosamia ricini*). *Journal of Southwest Agricultural University*, 23(4): 371 - 373.[常平安,宋方洲,刘明萱,占世丰,2001. 蓖麻蚕有丝分裂染色体的研究. 西南农业大学学报,23(4): 371 - 373]

Chang PA, Song FZ, Liu YQ, 2001. Studies on the meiotic chromosome of mulberry wild silk-worm (*Bombyx mandarina*). *Sericulture Science*, 27(3): 181 - 184.[常平安,宋方洲,刘运强,2001. 野桑蚕减数分裂的染色体研究. 蚕业科学,27(3): 181 - 184]

Dong N, Emmel TC, 1975. The karyotype of the beet armyworm, *Spodoptera exigua*. *Annals of the Entomological Society of America*, 68(3): 591 - 592.

Ma K, Shi LM, 1988. Karyotype of synaptonemal complex in silkworm, *Bombyx mori* L. *Acta Gentica Sinica*, 15(5): 355 - 361.[马昆,施立明,1988. 家蚕联会复合体组型分析. 遗传学报,15(5): 355 - 361]

Moti L, Lemeunier F, Lalanne-Cassou B, 1998. A chromosomal investigation of two closely related species of *Spodoptera*. *Genetics*, 321: 275 - 282.

Walther T, Cyril AC, 1996. Cytogenetics of a moth species with a low chromosome number, *Orgyia thyellina*. *Hereditas*, 125: 277 - 283.

Wang XR, Li YZ, Lu HH, 1995. The progress of study in beet armyworm (*Spodoptera exigua* Hübner). *Journal of Zhongkai Agricultural College*, 8(2): 87 - 93. [王晓容,黎永栈,卢辉红,1995. 甜菜夜蛾研究进展. 仲恺农业技术学院学报,8(2): 87 - 93]

Wang YX, Wang JL, Zhan YL, 1995. Karyotype of synaptonemal complex in *Antheraea yamamai*. *Journal of Anhui Agricultural University*, 22(3): 290 - 293.[王运湘,王建林,詹永乐,1995. 天蚕的染色体核型研究. 安徽农业大学学报, 22(3): 290 - 293]

Zhang LS, Zhang QW, Cai QN, Xu J, Zhou MZ, 2003. Insect chromosome research in China: Status and perspectives. *Acta Entomologica Sinica*, 46(6): 773 - 782. [张礼生,张青文,蔡青年,徐静,周明牂,2003. 中国昆虫染色体研究现状与展望. 昆虫学报,46(6): 773 - 782]

(责任编辑:黄玲巧)